

JINÝ POHLED NA GENETIKU A DĚDIČNOST – SEZNÁMENÍ S OBJEVY LAUREÁTKY NOBELOVY CENY BARBARY McCLINTOCK

A DIFFERENT VIEW OF GENETICS AND HEREDITY – MEET THE DISCOVERIES OF NOBEL LAUREATE BARBARA McCLINTOCK

Marie GREPLOVÁ, Romana HAMPEJSOVÁ, Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

GREPLOVÁ, M. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

JINÝ POHLED NA GENETIKU A DĚDIČNOST – SEZNÁMENÍ S OBJEVY LAUREÁTKY NOBELOVY CENY BARBARY McCLINTOCK

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 53–60

V minulém roce uplynulo 40 let od udělení Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství Barbaře McClintock. Své poznatky poprvé publikovala před téměř tři-čtvrté stoletím. Americká bioložka B. McClintock při studiu variability barvy kukuřičných zrn důsledně evidovala i výjimky. Její experimenty vedly k pochopení vztahu mezi nestabilními mutacemi a pohyblivými elementy (transpozony) v genomu. Tyto pohyblivé úseky DNA také zodpovídají za specifickou genovou expresi v organismu jako celku tím, že se v určitém okamžiku nebo v určité části zapínají a vypínají.

transponovatelné elementy; mutace; dědičnost; kukuřice

ÚVOD

Všeobecně není americká bioložka Barbara McClintock (1902–1992) široké veřejnosti známa. Přestože byla oceněna Nobelovou cenou za fyziologii a lékařství (1983), její objevy nebyly výrazněji popularizovány a rozhodně se nestaly samozřejmou součástí naší představy o fungování genetické informace. V češtině je možné se s touto pozoruhodnou osobností i jejím výzkumem seznámit v knize *Střetnutí paradigmat a řád nové skutečnosti* autorů Z. NEUBAUERA a J. FIALY (Malvern 2011). V publikaci je k dispozici i překlad její nobelovské přednášky *Plasticita genomu jako odpověď na nepředvídatelné situace* (The Significance of Responses of the Genome to Challenge; v originále na <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/mcclintock-lecture.pdf>), kde popisuje svoje poznatky o mechanismech genetické regulace. Uvádí např., jak jeden keř může vytvořit v reakci na naklazení hmyzích vajíček několik typů specifických útvarů – hálek pro potřeby těchto hmyzích dru-

hů, nebo jak stejný genetický program platí pro housenku a motýla. Autoři knihy provází svůj text také výňatky z životopisné knihy, kterou o Barbaře McClintock napsala Evelyn Fox Keller ještě před udělením Nobelovy ceny (*A Feeling for the Organism, The Life and Work of Barbara McClintock*, 1983; v češtině dosud nevyšlo).

Barbara McClintock byla průkopnicí nového pohledu na fungování genetické informace. Ukázala, že mechanismy genové regulace jsou složitější a nejsou čistě mechanistické. Objevila a prokázala existenci transpozice – mechanismu řízeného přemístování genů z jednoho místa chromozomu na jiné nebo na zcela jiný chromozom. Tyto transponovatelné/mobilní elementy (transpozony, pohyblivé úseky DNA, „skákající geny“) mají schopnost vypínat a zapínat geny, změnit způsob regulace jejich exprese, dokonce mohou způsobit ztrátu či zmnožení celých úseků genetické informace (NEUBAUER a FIALA, 2011).

První fáze práce na transpozici s objevením regulace (Ac/Ds – aktivátor/disociátor) proběhla v letech 1946–1948, publikována byla v roce 1950 a následující rok prezentovaná na sympoziu (NEUBAUER a FIALA, 2011). Tento revoluční pohled nebyl přijat. Atmosféra ve společnosti nebyla nakloněna přijmout představu aktivních rozsáhlejších genetických změn (NEUBAUER a FIALA, 2011). Experimenty dokazující podstatu transpozice byly příliš složité „i pro nejbystřejší mysl“ a teorie autonomie organismu/buňky byla vnímána jako příliš mystická (LIU, 2021), ne-li heretická (JONES, 2005), a tedy nepřijatelná (NEUBAUER a FIALA, 2011). Ve vědeckém prostředí dominoval mechanistický výklad přírody Reného Descartese (1596–1650), považovaného za hlavní postavu tzv. vědecké revoluce (wikipedie.cz). V roce 1953 přišli Francis Crick a James Watson s modelem dvojité šroubovice DNA, na jejímž objevu se podílela i R. E. Franklinová (wikipedie.cz) a pět let poté (1958) Francis Crick formuloval centrální dogma molekulární biologie, tj. jednosměrný přenos informace: DNA → RNA → protein (wikipedie.cz). Důraz byl kladen na stálost genů a chromozomů a na uspořádaná pravidla, jimiž se řídí dědičnost. Pakliže nastane změna genu (tedy mutace), je tato změna nevratná a důsledkem může být deaktivace genu (FERDOROFF, 1984). Pojetí organismu jako funkční mechanické jednotky a evoluce jako součty náhodných změn ve složení DNA ve společnosti přetrvávalo dalších dvacet let a o významu a dosahu transpozice se nemluvilo (NEUBAUER a FIALA, 2011). Ovšem poté, co byly k dispozici sekvenované genomy (rostlin, myší, lidí), bylo nutné akceptovat, že jsou plně transponovatelných elementů. Jevilo se, že většina genomů obsahuje směs transponovatelných elementů, z nichž některé jsou aktivní, zatímco jiné jsou relikty z minulosti (BIÉMONT, 2010). Namísto lineárních příčinných řetězců vedoucích od DNA přes RNA k bílkovinám a následným biologickým funkcím je organismus na všech úrovních propojen komplexními zpětnovazebnými i anticipačními vazbami s prostředím, které ovlivňují a mění RNA a DNA. Při zpětném pohledu to dává dokonalý smysl, protože „instrukce“ zapsané v DNA nikdy nemohou plně předvídat, co organismus během svého života zažije (HO, 2013).

TEORIE AUTONOMIE ORGANISMU – SUBJEKT VS. OBJEKT

Východisko tázání Barbary McClintock pramenilo z přesvědčení o subjektivitě organismů. A právě skutečnost, jaké otázky si klademe, se podle Ilji Prigogina (1917–2003) rozhodujícím způsobem podílí na tom, co objevíme. Záleží také na vnitřních (implicitních) předpokladech, na předsudcích (NEUBAUER a FIALA, 2011). Podle Evelyn Fox Keller sama Barbara McClintock považovala za nebezpečí, „když se lidé snaží vše vysvětlit na základě toho, o čem se domnívají, že vědí“. ... Když „lpění na modelech brání lidem podívat se na výsledky s čerstvou myslí“ (NEUBAUER a FIALA, 2011). Upozorňovala na zavedená dogmata, která brání efektivní komunikaci (LIU, 2021). Důvody nepřijetí mcclintokovského poznání souvisely se způsobem vědeckého myšlení a hledání pravdy (NEUBAUER a FIALA, 2011).

TRANSPOZONY REGULUJÍ NORMÁLNÍ VÝVOJ ORGANISMU, ALE ÚČINKUJÍ I PŘI EXTRÉMNÍ ZÁTĚŽI

Pravidla mívají výjimky. Tím, jak si Barbara McClintock všímala výjimek zbarvení kukuřičných zrn, vyzvaly důležité indicie. Provedla řadu experimentů, které vedly k pochopení vztahu mezi nestabilními mutacemi a transpozicí. Dospěla k závěru, že nestabilní mutace může vzniknout vložením transpozicičního elementu do genu zodpovědného za určitý morfologický projev (FEDOROFF, 1984).

Podle Niny FEDOROFF (1984) Barbara McClintock pochopila, že transpozony v jistém smyslu reverzibilně inhibují genovou expresi, a tím zodpovídají za specifickou genovou expresi v organismu jako celku. V určitém okamžiku vývoje organismu nebo v určité jeho části se zapínají, a jindy a jinde se vypínají (FEDOROFF, 1984), tedy hrají významnou roli v regulaci procesu vývoje, a to díky způsobu, jakým působí v určitých obdobích (JONES, 2005). Jde o jejich celkovou úlohu v „genetické choreografii“ (FEDOROFF, 1984). Transpozony jednak přispívají k přeprogramování genů jemným způsobem (např. geny zodpovědné za syntézu protilátek u vyšších živočichů), ale také se aktivují, když je genom ve stresu. Při silném stresu může dojít doslova ke „genetickému zemětřesení“ či „turbulenci“ (JONES, 2005; FEDOROFF, 1984). Cílem procesů v genech je ale následky stresu zmírnit; jde o „molekulární tanec života“ (HO, 2013), neboť celý organismus směřuje k jedinému cíli, k zachování a k přežití (NEUBAUER a FIALA, 2011). Při velkém stresu může být malá porucha zesílena (FEDOROFF, 1984), mohou nastat hrubé strukturální změny v genomu (JONES, 2005). Jedná se pak spíše o symptom už zhroucené stability organismu než o příčinu jejího zhroucení (HO, 2000).

ZAJŠTĚNÍ GENETICKÉ STABILITY DRUHU

Mutace v klíčovém genu může být pro buňku fatální a v takovém případě je vysoká míra transpozice nežádoucí. Transpozon má tedy mechanismus regulace genů pro enzymy transpozázu i resolvázu, které transpozici zahajují a ukončují; ukončovací enzym je současně represorem transpozice (FEDOROFF, 1984). Ke specifickým mechanismům omezujícím aktivitu transpozonů také patří represivní mechanismy heterochromatinu - specifické RNA, DNA vazebné faktory (CAVALLI a HEARD, 2019), metylace DNA, modifikace histonů a interference RNA (BIÉMONT, 2010). Mechanismy spojené s konformací chromatinu jsou vzájemně závislé a mohou zapínat nebo vypínat transponovatelné elementy (BIÉMONT, 2010). Buněčnými mechanismy je buňkám umožněno „editovat“ genom (NEUBAUER a FIALA, 2011).

Pozoruhodné ovšem je, že v germinální (zárodečné) linii jsou modifikační mechanismy „drženy přísně na uzdě“ (NEUBAUER a FIALA, 2011). Barbara ve své nobelovské přednášce poukazuje např. na rozdíl, jak organismus naloží s koncovým zlomem v chromozomu. V somatických buňkách např. endospermu se problém přenáší a opakuje se cyklus zlom-spoj-most, ale v zygotě se tento cyklus utne a dojde k tzv. zahojení dosyntetizováním nové funkční telomery (na molekulární úrovni tehdy neprokázaný jev; NEUBAUER a FIALA, 2011). Barbara McClintock totiž označila genom za „vysoce citlivý orgán buňky“, který „dovede vycítit“ úroveň stresu ve svém okolí a dokáže provést různě rozsáhlou restrukturalizaci, která povede k přežití (LIU, 2021). Je-li tedy buňka schopná takové opravy, musí tento zlom vnímat (NEUBAUER a FIALA, 2011). Povědomí o prostředí pravděpodobně znamená přítomnost/existenci vědomí. Oprava chyby ukazuje na záměr. Kterákoli jednotlivá rostlina s miliony buněk je samoorganizující se komplexní systém, kde každá buňka má povědomí o vnitřním a vnějším prostředí. Organismus nezbytně vyhodnocuje z různých možností a rozhoduje se pro nejvýhodnější, tudíž uplatňuje inteligentní chování (TREWAVAS, 2016). Podle srovnávacího sekvenování existuje v germinální linii i evoluční autoprogramování (jiné než diferenciační autoprogramování), takže následky transpozice mohou být děděny (NEUBAUER a FIALA, 2011). K udržení stability organismu je třeba, aby se geny a genomy průběžně adaptovaly. To je podstata organické stability v protikladu ke stabilitě mechanické (HO, 2000).

Od představy stabilního neměnného genomu jsme tak vedeni k představě „tekutého genomu“. Jde o obrat od „genocentrismu“ k „somatocentrismu“ (NEUBAUER a FIALA, 2011).

STUPNĚ GENETICKÉ REGULACE

Bakterie jsou schopné zahájit tvorbu bílkovin, které potřebují, a zastavit jejich tvorbu, jestliže potřeba pominula. V roce 1961 publikovali francouzští genetici François Jacob a Jacques Monod práci o funkci *lac operonu*, tj. genetického mechanismu bakterií, který umožňuje využívat alternativní zdroj uhlíku (NEUBAUER a FIALA, 2011). Oblasti důležitých genů – operonu je nadřazený regulátorový gen, tzn., že i u bakterií je systém genetické kontroly. Tehdy Barbara McClintock předpokládala, že se její práce dočká pochopení. Transpozice u kukuřice je analogií řídicích mechanismů bakterií. Považovala transpozici logicky za další/vyšší úroveň „genetické regulace“, totiž úroveň přestavby DNA, na rozdíl od přepisu na úrovni RNA (které se říká operonový model) a úrovně funkce zprostředkovanou proteiny. Tato myšlenka nebyla v té době přijatelná (NEUBAUER a FIALA, 2011).

HORIZONTÁLNÍ PŘENOS GENETICKÉ INFORMACE U BAKTERIÍ

Od šedesátých do osmdesátých let minulého století došlo k významnému poznání v oblasti rezistence bakterií k antibiotikům. Ukázalo se, že nedochází ke změně sekvence nukleotidů (pořadí zápisu), ale že jde o výsledek vložení kusu cizí DNA; že tuto cizí DNA nesou malé mobilní elementy; že k přenosu dochází také napříč mezi bakteriálními druhy, rody, řády a kmeny (FEDOROFF, 1984; HO, 2000), kde transport zajišťují plazmidy (malé kruhové molekuly bakteriální DNA; FEDOROFF, 1984). Např. sekvence DNA rezistentní k neomycinu a kanamycinu byla shodná u *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* a *Campylobacter* sp. (HO, 2000). Objevily se práce o regulaci transposáz (transpozicičních enzymů; NEUBAUER a FIALA, 2011). Pozoruhodné bylo i zjištění, že přeskoky se dějí u nedělicích se bakterií, v období zrání a stárnutí, tedy když nedochází k replikaci DNA (NEUBAUER a FIALA, 2011). Bakterie v kolonii (biofilmu) totiž pilně spolupracují, neznají konkurenci a sdílejí i to nejcennější (HO, 2000), v tomto případě rezistenci k antibiotikům, aby přežily.

TRANSPONOVATELNÉ ELEMENTY, EPIGENETIKA A EVOLUCE

B. McClintocková pochopila úlohu transpozonů v evoluci dříve než ostatní (wikipedia.org). Možnost uplatnění transponovatelných elementů v evoluci rozvíjí FEDOROFF (1984), a to nejen z hlediska modifikace genové exprese, ale i změny struktury genů a genomů. Tzn. že transpozibilní elementy mohou fungovat velmi decentním způsobem (kdy a kde v organismu bude gen aktivní), ale rovněž mohou být zdrojem takové genetické variability, kdy následně přírodní výběr vytrídí, co je pro daný druh užitečné. K úloze transpozonů v evoluci se přiklání JONES (2005): drastický podnět (enormní stres z prostředí) vyvolá

mobilizaci transpozonů, dojde k „výbuchu“ genetické nestability a nastanou rychlé změny v reakci na změny prostředí. Podle BIÉMONTA (2010) se lze na základě do té doby publikovaných prací domnívat, že transponovatelné elementy významně ovlivnily strukturu, funkci a evoluci genomů a že jejich regulační sekvence mohou zasahovat do regulačních sítí mnoha genů, vytvářet genetický polymorfismus podporující populační adaptaci, ale také mohou podporovat speciaci.

Složité vzájemné komunikace mezi organismem a jeho prostředím existuje na všech úrovních, s cykly zpětné vazby v epigenetických a metabolických interakcích, které mění geny v průběhu života organismu, přičemž účinky doznívají nebo zesilují po generace. Tak je zajištěna příprava organismu na další životní etapu a předání zkušeností dalším generacím (HO, 2013). Na interakci gen \times prostředí se podílejí transpozony jakožto intimní součásti genomů se svým regulačním potenciálem a mechanismy, které jejich aktivitu omezují. Ovlivňují, jak budou jedinci se stejnými nebo různými genotypy reagovat na změny prostředí (CAVALLI a HEARD, 2019). Aby organismus přežil, musí se v reálném čase zapojit do přirozené genetické modifikace, což je nesmírně přesný „molekulární tanec života“, kdy RNA a DNA se plně účastní navazujících biologických funkcí a reagují na ně (HO, 2013). Vnímání environmentálního stresu s následným resetem genomu prostřednictvím mobilních elementů může podle LIU (2021) souviset s dávno zavrženou teorií J. B. Lamarcka (1744–1829) o získané dědičnosti a s transgenerační epigenetickou dědičností.

ZÁVĚR

Transponovatelné elementy byly původně považovány za pouhou odpadní DNA, případně že jsou schopny produkovat částice podobné virům. To vedlo původně k představě jejich škodlivosti (BIÉMONT, 2010). Později CAVALLI a HEARD (2019) i LIU (2021) poukázali na to, že transpozony a jejich relikty tvoří hlavní část většiny eukaryotických genomů (např. dvě třetiny u lidí, 80 % u kukuřice). BIÉMONT (2010) publikoval schéma jejich odhadovaného podílu v genomech různých eukaryot. Je možné, že rozsáhlé molekulární studie variability nemocí najdou více propojení na mcclintokovskou genetiku. Sedmdesát let od publikování první práce o transponovatelných elementech se ve svém článku LIU (2021) odkazuje na práci konsorcia vědců Pan-cancer analysis of whole genomes (The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium) upozorňující na nesmírnou heterogenitu rakoviny, kterou nelze vysvětlit tradiční teorií somatických mutací. Historie transponovatelných prvků je dobrým příkladem toho, jak věda funguje a jak se nové koncepty mohou postupně začleňovat a vyvíjet, až nakonec zcela změní náš pohled na věc. Je to ponaučení pro vědce, jak je třeba být tolerantní k novým myšlenkám, i když jsou v rozporu s dobovými teoriemi a poznatky (BIÉMONT, 2010). LIU (2021) předpokládá, že se historie zopakuje: Jestliže 37 let po smrti Johana Gregora Mendela byla jeho

genetika přijata a stala se univerzální ve 20. století, ve 21. století bude přijata teorie Barbary McClintock (opět po více než 30 letech od jejího úmrtí). V pozoruhodné publikaci Rozhovor s Einsteinem (MIHULOVÁ a SVOBODA, 2019) Einstein říká: „*Na poli univerza jsou všechny lidské objevy nepatrné... to, co jsme považovali za pevné základy, bylo pouze povrchním zdáním.*“ A v knize Evelyn Fox Keller Barbara McClintock sděluje: *Cokoli, nač jste schopni pomyslet, naleznete... Ve srovnání s vynalézavostí přírody naše vědecká inteligence bledne.* (NEUBAUER a FIALA, 2011).

PODĚKOVÁNÍ

Krátké sdělení bylo zpracováno v rámci institucionální podpory MZE-RO1624.

ZDROJE

LITERATURA

- BIÉMONT, CH. (2010): A brief history of the status of transposable elements: from junk DNA to major players in evolution. *Genetics*, 186: 1085–1093. doi: 10.1534/genetics.110.124180
- CAVALLI, G. – HEARD, E. (2019): Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 571: 489-499. doi.org/10.1038/s41586-019-1411-0
- FEDOROFF, N. V. (1984): Transposable genetic elements in maize. *Scientific American*, 250(6): 84-96.
- HO, M-W. (2000): Genetické inženýrství – naděje nebo hrozba? *Alternativa*. ISBN 80-85993-52-X.
- HO, M-W.(2013): The new genetics and natural versus artificial genetic modification, *Entropy*, 15: 4748-4781; doi:10.3390/e15114748
- JONES, R. N. (2005): McClintock's controlling elements: the full story. *Cytogenet Genome Res*, 109: 90–103. DOI: 10.1159/000082387
- LIU, J. (2021): Giant cells: Linking McClintock's heredity to early embryogenesis and tumor origin throughout millennia of evolution on Earth. *Semin Cancer Biol*, 81: 176-192. 2022. e-Pub 2021. PMID: 34116161.
- MIHULOVÁ, M. – SVOBODA, M. (2019): Rozhovor s Einsteinem – Vědomí pokory. *Santal*. ISBN 978-80-87987-12-4.
- NEUBAUER, Z. – FIALA, J. (2011): *Střetnutí paradigmat a řád živé skutečnosti*. Malvern. ISBN 978-80-86702-88-9.
- TREWAVAS, A. (2016): Intelligence, cognition, and language of green plants. *Front. Psychol.*, 7: 588. doi: 10.3389/fpsyg.2016.00588

INTERNET

- https://cs.wikipedia.org/wiki/Ren%C3%A9_Descartes
- https://cs.wikipedia.org/wiki/Rosalind_Franklinov%C3%A1
- https://cs.wikipedia.org/wiki/Centr%C3%A1ln%C3%AD_dogma_molekul%C3%A1rn%C3%AD_biologie
- https://en.wikipedia.org/wiki/Barbara_McClintock
- <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/mcclintock-lecture.pdf>

GREPLOVÁ, M. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

A DIFFERENT VIEW OF GENETICS AND HEREDITY - MEET THE DISCOVERIES OF NOBEL LAUREATE BARBARA McCLINTOCK

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 53–60

Last year marked 40 years since Barbara McClintock was awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine. She first published her findings nearly three-quarters of a century ago. American biologist B. McClintock consistently recorded also the exceptions when studying the variability of the corn grains color. Her experiments led to an understanding of the relationship between unstable mutations and mobile elements (transposons) in the genome. These mobile stretches of DNA are also responsible for specific gene expression in the organism as a whole by turning on and off at a particular time or in a particular part.

transposable elements; mutations; heredity; corn

Kontakt:

Ing. Marie GREPLOVÁ, Ph.D.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Dobrovského 2366

580 01 Havlíčkův Brod

Česká republika

tel.: +420 569 466 218

e-mail: greplova@vubhb.cz